



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



⑪ Numéro de publication: **0 419 387 A1**

⑫

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

⑲ Numéro de dépôt: **90430018.3**

⑤ Int. Cl.⁵: **A61K 49/02, A61K 43/00,
C07K 5/06**

⑳ Date de dépôt: **20.09.90**

③① Priorité: **21.09.89 FR 8912622**

④③ Date de publication de la demande:
27.03.91 Bulletin 91/13

③④ Etats contractants désignés:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

⑦① Demandeur: **IMMUNOTECH PARTNERS:**
Société en Commandite par Actions dite
70, route Léon-Lachamp, Case 915 - Luminy
F-13288 Marseille Cédex 9(FR)

⑦② Inventeur: **Barbet, Jacques**
20 rue Plaine-Rey
F-13009 Marseille(FR)
Inventeur: **Delaage, Michel**
16 rue Adolphe-Thiers
F-13001 Marseille(FR)
Inventeur: **Gruaz-Guyon, Anne**
41 Avenue Victor Hugo
F-92100 Boulogne(FR)
Inventeur: **Le Doussal, Jean-Marc**
25 avenue Mireille
F-13009 Marseille(FR)

⑦④ Mandataire: **Rinuy, Santarelli**
14, avenue de la Grande Armée
F-75017 Paris(FR)

⑤④ Nouveaux dérivés hydrophiles, application au diagnostic et à la thérapeutique, kits diagnostiques ou thérapeutiques et réactifs immunologiques.

⑤⑦ Dérivés comprenant deux haptènes hydrophiles et un groupe effecteur constitué d'un isotope radioactif ou connu pour pouvoir être marqué par un isotope radioactif ou constitué d'un principe actif ou connu pour pouvoir fixer un principe actif, reliés par une chaîne de connexion ; application au diagnostic et à la thérapeutique, kits diagnostiques ou thérapeutiques et réactifs immunologiques les renfermant.

EP 0 419 387 A1

NOUVEAUX DERIVES HYDROPHILES, APPLICATION AU DIAGNOSTIC ET A LA THERAPEUTIQUE, KITS DIAGNOSTIQUES OU THERAPEUTIQUES ET REACTIFS IMMUNOLOGIQUES.

La présente invention concerne des dérivés utiles notamment comme immuno-réactifs destinés en particulier à cibler des cellules animales en vue de leur visualisation ou de leur destruction, les kits de réactifs les renfermant ainsi que leur application à la visualisation et à la destruction des cellules.

La demande de brevet français N° 86.13146 et la demande de brevet européen N° 87.430031.2 ont décrit des immuno-réactifs destinés à cibler les cellules animales pour leur visualisation ou leur destruction in vivo.

Ces immuno-réactifs consistent en deux types de produits à savoir a) un anticorps monoclonal ou un fragment d'anticorps reconnaissant un type cellulaire, un tissu particulier ou un constituant d'un organisme animal conjugué à un second anticorps ou fragment d'anticorps reconnaissant un groupement hapténique déterminé et b) une molécule constituée d'au moins deux haptènes identiques ou différents reconnus par l'un des anticorps et d'un motif constitué d'un élément de visualisation, ou d'un produit actif ou connu pour pouvoir recevoir un élément de visualisation ou un produit actif destiné à la destruction de la cellule-cible.

Dans ce qui suit, on appellera le produit (b) "sonde".

Lorsque l'on veut réaliser une bonne visualisation d'une cellule-cible, il est souhaitable de réduire au maximum le bruit de fond. De même, étant donné que les principes actifs cytotoxiques possèdent habituellement une certaine toxicité, il est souhaitable de les retrouver seulement au niveau de la cellule-cible à détruire, le plus rapidement possible après leur administration.

C'est pourquoi la présente demande a pour objet des dérivés caractérisés en ce qu'ils comprennent deux haptènes hydrophiles et un groupe effecteur constitué d'un isotope radioactif ou connu pour pouvoir être marqué par un isotope radioactif ou constitué d'un principe actif ou connu pour pouvoir fixer un principe actif. Ces dérivés sont analogues à des produits tels que ceux décrits en b) ci-dessus.

Par "haptène", l'on entend dans le cadre de la présente invention, une molécule capable de se lier spécifiquement à un anticorps au niveau d'un de ses sites de fixation. C'est une molécule qui n'est pas antigénique par elle-même mais peut le devenir par fixation sur une macromolécule. Sa masse moléculaire est généralement inférieure à 1500 daltons.

Par "hydrophiles", l'on entend que le coefficient de partition entre une phase aqueuse neutre (proche des conditions physiologiques) et un solvant organique non totalement miscible à l'eau comme le N-butanol est supérieur à 1 pour le haptène isolé. Cette mesure peut être effectuée, notamment après 2h d'agitation d'une solution d'haptène dans 10 mM Hepes, 150 mM NaCl, pH 7,4 mélangée à une partie égale de butanol.

Les haptènes préférés selon la présente invention auront une masse moléculaire comprise entre 300 et 1500 daltons et comporteront des groupements chimiques polaires. Ces groupements seront notamment des groupes alcools, amines, acides carboxyliques, sulfoniques et phosphoriques, ainsi que leurs esters et amides.

Parmi les dérivés objet de la présente invention, on retient de préférence ceux caractérisés en ce que les haptènes ont une constante de dissociation inférieure ou égale à 10^{-5} M et notamment inférieure ou égale à 10^{-6} M avec un anticorps qui leur est spécifique. Cette constante est mesurée dans les conditions usuelles de pH, température et concentration en sels.

Comme indiqué dans la demande de brevet français précitée, les haptènes peuvent revêtir une grande variété de structures. On retient toutefois plus particulièrement les haptènes qui constituent un groupe chélatant.

Par "chélatant", l'on entend une molécule capable de fixer un atome de métal de manière très stable.

Les groupes chélatants particulièrement intéressants convenant comme haptènes hydrophiles selon la présente invention sont constitués par les acides polyaminocarboxyliques, notamment l'acide diéthylènetriamine-pentaacétique (DTPA) et ses dérivés.

Ces groupes chélatants peuvent contenir ou non un métal, et on retient plus particulièrement ceux contenant de l'indium complexé.

A titre d'haptènes, on retient également les dérivés des aminoacides polaires et particulièrement de l'histidine et les dérivés de l'histamine, tout particulièrement l'histamine-succinyl-glycine. On peut citer également la fluorescéine et ses dérivés et le méthotrexate.

Dans une sonde, les haptènes et le(s) groupe(s) effecteur(s) sont reliés de manière stable par une chaîne de connexion. Celle-ci permet la fixation simultanée sur une même molécule sonde d'au moins deux anticorps spécifiques sur le ou les haptènes et ainsi la formation des complexes particuliers recherchés.

Un des haptènes peut également jouer le rôle d'effecteur ; en particulier un de ses atomes peut être

remplacé dans la sonde par un radio-isotope ou alors un principe actif tel que ceux décrits ci-après : une partie du principe actif peut également constituer le haptène. On peut citer par exemple le DTPA-indium.

L'on entend par "groupement effecteur", un groupement chimique responsable de l'effet désiré, consécutivement à l'utilisation de la sonde, sur sa cible dans l'organisme. Le groupement effecteur peut réaliser soit le repérage de sites d'accumulation de la sonde, soit par exemple la destruction de cellules au niveau de sites d'accumulation.

Dans le premier type d'application, le groupement effecteur comportera par exemple un ou plusieurs atomes repérables par des moyens physiques appropriés, comme par exemple des atomes radioactifs émetteurs de rayonnement, notamment gamma. On peut citer également les atomes ou groupements chimiques suffisamment para-magnétiques pour perturber les signaux de résonance magnétique nucléaire.

Dans le second type d'applications, le groupement effecteur pourra comporter un ou plusieurs émetteurs de rayonnement ionisant, par exemple β ou α en vue d'une radio-thérapie. Il pourra aussi être constitué d'un ou plusieurs groupes chimiques capables de cytotoxicité par eux-mêmes, comme les agents alkylants, le méthotrexate, les vinca-alkaloïdes, les anthracyclines ou des toxines végétales ou bactériennes comme la ricine ou la toxine diphtérique, ou encore sous l'effet d'un rayonnement extérieur comme les porphyrines.

Des chaînes de connexion préférées sont celles qui permettent une séparation suffisante des haptènes, notamment supérieure à 10 Angströms.

Ces chaînes seront de préférence peu sensibles à l'hydrolyse une fois injectées dans l'organisme. On utilise avantageusement à titre de chaînes de connexion des aminoacides, de préférence de série D, en enchaînement peptidique.

Pour certaines applications particulières, les chaînes de connexion ci-dessus décrites comprennent un groupement phénol et on retient tout particulièrement les chaînes de connexion renfermant de la tyrosine ou constituées de tyrosine.

Parmi les dérivés objets de la présente invention, l'on retient également ceux dont les haptènes sont des glycyl-succinyl-histamine, qui sont couplés à une diamine phénolée, notamment couplés à un peptide renfermant de la tyrosine.

Parmi les dérivés selon la présente invention, on retient tout particulièrement les dérivés de la tyrosine suivants :

- la Na- α -DTPA-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-lysine ;
- la N- α -N- ϵ -di-(DTPA-glycyl)-lysyl-tyrosine ;
- la N- α -N- ϵ -di-(histamine-succinyl-glycyl) lysyl-tyrosine de formules respectives :



Pour une application en radio-immunothérapie, une dose préférée sera comprise par exemple entre 50

mCi et 1 Ci.

Compte tenu de l'utilisation particulière des dérivés selon la présente invention, la présente demande a également pour objet les kits diagnostiques ou thérapeutiques, caractérisés en ce qu'ils renferment au moins un des dérivés selon la présente invention, tels que définis cidessus et un anticorps ou fragment d'anticorps, notamment monoclonal reconnaissant un type cellulaire ou un tissu particulier, conjugué à un deuxième anticorps ou fragment d'anticorps reconnaissant un groupement hapténique dudit dérivé.

La présente demande a enfin pour objet les réactifs immunologiques comprenant un conjugué, composé d'un anticorps ou fragment d'anticorps notamment monoclonal ayant une affinité pour un type cellulaire particulier ou un constituant normal ou pathologique de l'organisme particulier, couplé à un anticorps ou fragment d'anticorps notamment monoclonal ayant une affinité pour un haptène donné, et une molécule synthétique, comprenant au moins deux haptènes correspondant au conjugué ci-dessus et au moins un site, apte au marquage radioactif ou à fixer un principe actif, liés de manière covalente, caractérisés en ce que la molécule synthétique est un dérivé ci-dessus défini.

Lorsque l'on parle de conjugué d'anticorps, on ne préjuge pas d'une méthode de préparation quelconque en ce sens que l'on vise aussi des anticorps bispécifiques encore appelés recombinants, quadromes ou polydomes, par exemple.

Les exemples qui suivent illustrent la présente invention sans toutefois la limiter.

20 Exemple 1

N- α -DTPA-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-lysine

On dissout 45 μ Mole de tyrosyl-lysine dans 600 μ l d'eau ajoutée à 45 μ Mole de triéthylamine et 180 μ Mole de l'anhydride cyclique du DTPA en solution dans 1 ml de DMSO.

On laisse pendant 16 heures à la température ambiante en maintenant le pH à environ 7 à l'aide de triéthylamine. On purifie par filtration sur gel (colonne Biogel P4). On récupère les fractions correspondant au produit attendu et les purifie sur une colonne échangeuse d'ions (mono-Q pharmacia) et chromatographie liquide haute pression en utilisant une colonne C-18.

On a identifié le produit obtenu par spectrométrie UV (max à 277nm) et spectrométrie de masse (pic moléculaire à 1060).

35 Exemple 2

N- α -N- ϵ -di-(DTPA-glycyl)-lysyl-tyrosine

A partir de 1 g de résine de N- α -BOC-O-benzyl-L-tyrosine, on prépare le N- α -N- ϵ -di-(glycyl)-lysyl-tyrosine classiquement par synthèse en phase solide.

On libère à l'aide d'acide fluorhydrique liquide le produit obtenu et on le purifie par filtration sur gel et chromatographie liquide à haute pression. On fait alors réagir ce peptide avec l'anhydride cyclique du DTPA, comme indiqué ci-dessus à l'exemple 1 ; on purifie le produit obtenu par filtration sur gel, chromatographie sur colonne échangeuse d'ions et chromatographie liquide haute pression et on l'identifie comme décrit ci-dessus (max à 277 nm, pic moléculaire à 1174).

Exemple 3

N- α -N- ϵ -di-(histamine-succinyl-glycyl)-lysyl-tyrosine

On synthétise la N- α -N- ϵ -di-(glycyl)-lysyl-tyrosine sur résine comme indiqué à l'exemple 2. Après déprotection des groupes amino terminaux, on ajoute à la résine 2,5 équivalents d'anhydride succinique dans le DMF et 2,5 équivalents de triéthylamine. On laisse pendant 2 heures à la température ambiante, lave et ajoute 2,6 équivalents d'histamine et de BOP en solution dans le DMF et 3,5 équivalents de diisopropyléthylamine.

On laisse encore incuber, lave et libère le produit désiré ; on purifie par filtration sur gel et par chromatographie liquide haute pression et identifie le produit obtenu par spectrométrie UV (max à 220 nm et à 277 nm) et de masse (pic moléculaire à 810).

5

Exemple 4

Marquage du dérivé de l'exemple 1 à l'indium-111

10

On prépare une dilution à 0,5 μ M du produit de l'exemple 1 dans un tampon à pH 5, 100 mM d'acétate et mM de citrate. On ajoute 0,5 mCi de trichlorure d'indium-111 (dans 50 μ l d'acide chlorhydrique 50 mM) à 50 μ l de la solution ci-dessus et on laisse incubé pendant 16 heures à 37° C.

On ajoute alors un excès d' InCl_3 non radioactif (10 μ l d'une solution 1 mM dans un tampon pH 5 citrate 15 100 mM) pour saturer les deux groupes chélatants du dérivé de l'exemple 1.

Le dérivé de l'exemple 1 marqué est dilué à l'activité souhaitée juste avant l'injection à l'aide d'une solution 20 mM Hepes, 150 mM HCl, 10 μ M EDTA pH 7,4.

20 Exemple 5

Radioimmunoscintigraphie de mélanomes humains greffés sur des souris nudes visualisés par des conjugués à double spécificité anti-mélanome anti-DTPA indium et la N- α -DTPA-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-lysine 25 marquée à l'indium-111.

On injecte par voie sous-cutanée 3.10⁶ cellules de mélanome humain (A375) dans l'abdomen de souris nudes. Celles-ci développent 3 à 4 semaines plus tard des tumeurs de 0,5 à 2 g. On injecte alors aux 30 souris 2 à 10 μ g de conjugué à double spécificité préparé par couplage chimique du fragment F(ab)₂ d'un anticorps anti mélanome humain (anticorps monoclonal de souris IgG₁, kappa) au fragment F(ab)₂ réduit d'un anticorps anti-DTPA-indium (anticorps monoclonal de souris IgG₁, lambda) au moyen du réactif hétérobifonctionnel, EMCS.

Vingt quatre heures plus tard on injecte aux souris 10 μ Ci du dérivé de l'exemple 1 marqué à l'indium-111. On prend alors des images à des intervalles de temps choisis en utilisant une gamma caméra Sopha 35 Medical Gammatome 2 équipée d'un collimateur à haute résolution et moyenne énergie, ou alors on tue les animaux et on mesure à l'aide d'un compteur gamma la radioactivité associée à l'indium-111, des principaux organes et de la tumeur.

Quelques minutes après l'injection du dérivé de l'exemple 1 marqué, des tumeurs peuvent déjà être observées sur les images obtenues par gamma caméra. On constate qu'une forte majorité de la radioactivi- 40 té circulante est éliminée en moins de 24 heures alors que celle fixée sur la tumeur s'établit en quelques heures et reste stable pendant au moins deux jours.

L'accumulation non spécifique de radioactivité a été essentiellement limitée aux reins.

La radioactivité mesurée après 24 heures au niveau des organes et des tumeurs montre un rapport tumeurs/organes élevé (T/O > 3) dans tous les organes, à l'exception des reins (T/O = 0,7).

La fixation tumorale a été spécifique, étant donné que les tumeurs n'ont pas accumulé de quantités 45 significatives de radio-activité lorsque l'on n'a pas injecté de conjugués anticorps à double spécificité ou lorsque le conjugué était spécifique d'un antigène associé à une autre tumeur. Lorsque du DTPA marqué à l'indium-111 (analogue monovalent du dérivé de l'exemple 1 reconnu par l'anticorps anti-indium-DTPA avec une forte affinité) a été injecté à la place du dérivé de l'exemple 1, la radioactivité est excrétée très 50 rapidement et on a observé peu de fixation spécifique.

Quand on a injecté le fragment F(ab)₂ directement marqué de l'anticorps anti-mélanome, on a observé une fixation spécifique sur la tumeur mais la radioactivité circulante s'est éliminée plus lentement et les rapports tumeurs/organes à 24 heures étaient plus faibles (compris entre 0,4 et 7). La fixation non 55 spécifique dans les reins et le foie a été particulièrement élevée (T/O = 0,4 et 1,5 respectivement).

En conclusion, les dérivés selon la présente invention présentent de remarquables résultats par rapport aux autres techniques directes et indirectes de visualisation.

Exemple 6

Tolérance des sondes chez l'animal

5

Des doses correspondant à 10 nanomoles, soit environ 10000 fois plus que la dose qui est nécessaire pour une radioimmunoscintigraphie, des composés 1 et 2 préalablement complexés avec de l'indium non radioactif et du composé 3 ont été administrées à des souris BALB/c. Ces souris ont ensuite été observées pendant 16 jours dans des conditions normales d'élevage. On n'a constaté aucun signe de toxicité et la

10

Exemple 7

15

Comparaison entre le composé 1 marqué à l'indium-111 et le di-(DNP-lys)-DTPA dans le marquage de tumeurs chez la souris.

Les expériences sont conduites comme dans l'exemple 5, mais des souris reçoivent le di-(DNP-lys)-DTPA marqué à l'indium-111 (dérivé 1 de la demande de brevet français 86.13146) à la place du dérivé 1 décrit ci-dessus. Trois heures après injection de la sonde, les souris sont disséquées et on compte la radioactivité gamma des principaux organes et de la tumeur. On observe que la tumeur a accumulé une dose de radioactivité équivalente à celle obtenue avec les deux composés de l'exemple 1 de la présente invention. En revanche, l'élimination de l'excès de radioactivité est significativement plus rapide avec les

25

composés de la présente invention, comme l'indique le tableau suivant :

30

35

40

Contraste cpm/g dans la tumeur · cpm/g dans l'organe à 3 heures après injection de la sonde radiomarquée		
Organe	Nouvelle sonde dérivé de l'exemple 1	Ancienne sonde dérivé de l'art antérieur
Plasma	1,7	0,2
Reins	3,5	1,0
Foie	10,8	1,3
Rate	12,7	1,8
Poumon	8,2	0,9
Coeur	14,9	2,1

Le contraste tumeur sur organe est donc bien meilleur avec les dérivés la présente demande qu'avec ceux de l'art antérieur.

45

Exemple 8

N- α -acétyl, N- ϵ -DPTA, L-lysyl-L-tyrosyl-N- ϵ -DPTA-L-lysyl-amide

50

En opérant comme indiqué à l'exemple 2, on a préparé le produit recherché, identifié comme ci-dessus (max à 277 nm, pic moléculaire à 1228).

Ce dérivé est doué de propriétés très proches de celles du produit de l'exemple 1.

55

Exemple 9

N- α -acétyl, N- ϵ -(histamine-succinyl-glycyl)-L-lysyl-L-tyrosyl-N- ϵ -(histamine-succinyl-glycyl)-L-lysyl-amide

En opérant comme indiqué à l'exemple 3, on a préparé le produit attendu, identifié comme ci-dessus (max à 220 et 277 nm, et pic moléculaire à 978).

5

Revendications

1. Dérivés caractérisés en ce qu'ils comprennent deux haptènes hydrophiles et un groupe effecteur
10 constitué d'un isotope radioactif ou connu pour pouvoir être marqué par un isotope radioactif ou constitué d'un principe actif ou connu pour pouvoir fixer un principe actif, reliés par une chaîne de connexion, étant entendu que la chaîne de connexion ne peut pas être un polymère.
2. Dérivés selon la revendication 1, caractérisés en ce que les haptènes hydrophiles ont un coefficient de partition eau-butanol supérieur à 1.
- 15 3. Dérivés selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce que les haptènes ont une constante de dissociation inférieure ou égale à 10^{-5} M avec un anticorps qui leur est spécifique.
4. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que les haptènes sont des groupes chélatants.
5. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisés en ce que les haptènes sont fixés
20 au groupe effecteur par l'intermédiaire d'une chaîne de connexion qui est un peptide.
6. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 4 ou 5, caractérisés en ce que le groupe chélatant est un dérivé du DTPA.
7. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisés en ce que la chaîne de connexion comprend un groupement phénol.
- 25 8. Dérivés selon la revendication 7, caractérisés en ce que la chaîne de connexion comprend de la tyrosine ou est constituée de tyrosine.
9. La N- α -DTPA-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-lysine.
10. La N- α -N- ϵ -di-(DTPA-glycyl)-lysyl-tyrosine.
11. La N- α -N- ϵ -di-(histamine-succinyl-glycyl)-lysyl-tyrosine.
- 30 12. Le N- α -acétyl, N- ϵ -DTPA, L-lysyl-L-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-L-lysyl-amide.
13. Le N- α -acétyl, N- ϵ -(histamine-succinyl-glycyl)-L-lysyl-L-tyrosyl-N- ϵ -(histamine-succinyl-glycyl)-L-lysyl-amide.
14. Application des dérivés tels que définis à l'une quelconque des revendications 1 à 13 au diagnostic ou à la thérapeutique.
- 35 15. Kits diagnostiques ou thérapeutiques, caractérisés en ce qu'ils renferment au moins un des dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 et un anticorps ou fragment d'anticorps, notamment monoclonal reconnaissant un type cellulaire ou un tissu particulier, conjugué à un deuxième anticorps ou fragment d'anticorps reconnaissant un groupement hapténique dudit dérivé.
16. Réactifs immunologiques comprenant un conjugué composé d'un anticorps ou fragment d'anticorps
40 notamment monoclonal ayant une affinité pour un type cellulaire particulier ou un constituant normal ou pathologique de l'organisme particulier, couplé à un anticorps ou fragment d'anticorps notamment monoclonal ayant une affinité pour un haptène donné, et une molécule synthétique comprenant au moins deux haptènes correspondant au conjugué ci-dessus et au moins un site, apte au marquage radioactif ou à fixer à un principe actif, liés de manière covalente, caractérisés en ce que la molécule synthétique est un dérivé
45 défini à l'une des revendications 1 à 13.

50

55



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande

EP 90 43 0018

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (int. Cl.5)
X	WO-A-8 303 679 (HYBRITECH INC.) * Page 27, lignes 27-31; page 32, lignes 9-35; page 33, lignes 1-6 *	1,2,4,16	A 61 K 49/02 A 61 K 43/00 C 07 K 5/06
X	EP-A-0 217 577 (HYBRITECH INC.) * Colonne 6, lignes 36-57; colonne 9, lignes 46-58; colonne 11, lignes 1-23; colonne 12, lignes 1-23; revendications 10,12,15,16 *	1,2,4,15	
X	EP-A-0 251 494 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) * Page 4, lignes 14-28; figure 1 *	1,2,4	
X	EP-A-0 006 792 (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE) * Page 3, lignes 21-37; page 4, lignes 34-37; page 5, lignes 1-8 *	1,2,4	
A D,X	EP-A-0 263 046 (IMMUNOTECH) * Page 3, lignes 36-52; revendication 1 *	7-8 1,2,4	
A X	EP-A-0 327 365 (HYBRITECH INC.) * Page 5, lignes 37-62; revendications 18,19; page 20, lignes 20-38 *	1-16 1-4,6,15, 16	G 01 N A 61 K C 07 K
A	US-A-4 479 930 (D.J. HNATOWICH) * Colonne 2, ligne 55 - colonne 3, ligne 4; colonne 3, lignes 40-50 *	4,6,9,10, 11	
A	WO-A-8 907 114 (CYTOGEN CORP.) * Page 15, lignes 19-3 *	1,8-13	
Le présent rapport de recherche a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche La Haye		Date d'achèvement de la recherche 28 novembre 90	Examineur LUZZATTO E.R.P.G.A.
<div>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</div> <div>X: particulièrement pertinent à lui seul Y: particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A: arrière-plan technologique O: divulgation non-écrite P: document intercalaire T: théorie ou principe à la base de l'invention</div> <div>E: document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D: cité dans la demande L: cité pour d'autres raisons &: membre de la même famille, document correspondant</div>			

THIS PAGE BLANK (USPTO)